

Conseil Scientifique Régional du Patrimoine Naturel de la Région Pays de la Loire		
Date :	Objet :	Avis :
Jeudi 27 février 2014	Étude de l'effet de l'épandage de <i>Bti</i> sur la faune non cible et les milieux naturels	défavorable

INTRODUCTION

L'Établissement interdépartemental de démoustication du littoral Atlantique (ci-après l'EID) conduit régulièrement des opérations de démoustication dans certaines zones humides des départements côtiers du Morbihan à la Gironde. Ces opérations sont autorisées annuellement par des arrêtés préfectoraux. Depuis 2010, elles doivent faire l'objet d'une évaluation de leurs incidences, raison pour laquelle les demandes d'autorisations préfectorales sont soumises à l'appréciation des DREAL concernées.

Ces opérations consistent à répandre dans l'eau du *Bti* (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) sur les gîtes larvaires des espèces de moustiques ciblées, lorsque les conditions, en particulier hydrauliques, sont réunies pour l'éclosion des œufs de ces espèces. L'épandage se fait à pied, à l'aide d'un pulvérisateur portatif dans la cuve duquel du Vectobac® (formulation du *Bti*) en poudre a été dilué dans de l'eau. L'effet attendu est une mortalité des larves de moustiques, qui réduit la population d'adultes. Cette mortalité, variable, est en moyenne de l'ordre de 90% des larves.

Parmi les incidences possibles de ces opérations figure l'effet négatif, éventuellement létal, sur d'autres invertébrés aquatiques que les espèces ciblées, en particulier sur les larves d'autres diptères tels que les chironomes, ainsi que la répercussion de la mortalité des espèces affectées sur leurs prédateurs et concurrents.

A la demande de l'EID, l'INRA a conduit depuis 1998 une étude visant à évaluer les effets éventuels du Vectobac® sur des invertébrés non cibles. La publication la plus récente à laquelle a donné lieu cette étude est, à notre connaissance, Lagadic *et al.* (2014), dont le titre (traduit de l'anglais) est : « L'épandage de *Bti* n'a pas d'effet négatif sur les invertébrés aquatiques non cibles dans les zones humides de la côte atlantique française ». L'étude est basée sur la comparaison des peuplements d'invertébrés aquatiques sur un site de pré salé du Morbihan, présents respectivement sur une zone jamais traitée et sur une autre, voisine, traitée plusieurs fois par an. Les peuplements d'invertébrés sont caractérisés à partir de prélèvements (colonne d'eau + sédiment) de 20 cm de diamètre, à raison de 5 prélèvements pour chacune des deux zones, localisés aléatoirement (Caquet *et al.* 2011). Pour chacune des deux zones traitée et témoin, un ensemble de 5 prélèvements correspond donc à 0,16 m². Ces prélèvements ont été répétés plusieurs fois par an, de 2006 à 2012.

Malgré la prétention des responsables de cette étude à généraliser ses résultats à tout ou partie des zones humides sur lesquelles intervient l'EID, dont témoigne par exemple le titre d'article cité ci-dessus, l'EID a souhaité qu'elle soit étendue géographiquement.

C'est pourquoi l'INRA a engagé depuis 2011, pour le compte de l'EID, une étude similaire concernant les différents départements sur lesquels une démoustication est réalisée.

La DREAL des Pays de la Loire a demandé l'avis du CSRPN de cette région sur la capacité de cette nouvelle étude à « répondre ou non à la question de l'impact de l'usage du *Bti* sur la faune non-cible et les milieux naturels ».

L'avis du CSRPN est basé principalement sur les deux rapports disponibles concernant cette nouvelle étude, c'est-à-dire Roucaute *et al.* (2011) et Roucaute *et al.* (2013). Cette étude est placée sous la coordination scientifique de L. Lagadic et T. Caquet.

RAPPORT 2011 :

STATIONS D'ÉTUDE :

- nombre :

Il y a 1 station par département. Il est indiqué que les moyens disponibles limitent le nombre possible de stations, mais aucune autre justification n'est apportée au fait qu'il n'y ait qu'une station et non plusieurs par département.

- critères de choix :

Une prospection à large échelle a été faite pour trouver les stations les plus « représentatives », ce dernier mot n'étant pas précisé ni défini. Et « Les stations ont été choisies en fonction de la prédominance, dans chaque département, du type d'habitat prioritaire défini aux termes du décret n°2010-368 relatif à l'évaluation des incidences Natura 2000 ». Le décret dont il s'agit est en fait le n° 2010-365. Nous n'y trouvons pas la définition de types d'habitats prioritaires. Nous ne trouvons pas dans le rapport de l'INRA une cartographie un peu précise des secteurs où l'EID intervient, ni de cartographie des habitats d'intérêt communautaire (prioritaires ou non). Il nous semble pourtant que c'est à l'intérieur des zones de recouvrement entre ces deux critères que les stations auraient dû être explicitement choisies. Lors de l'exposé fait par L. Lagadic en réunion du 27 février, il nous a semblé comprendre que c'était une fois les stations retenues qu'était identifié l'habitat d'intérêt communautaire qui y était prédominant. La définition des critères de choix est en fait excessivement imprécise, au point qu'on peut la qualifier d'absente.

- localisation:

Faute de connaître les éventuels critères de choix, il n'est pas possible de confronter la localisation des stations retenues avec ces critères. L'appréciation que l'on peut porter sur cette localisation est donc elle-même inévitablement empirique.

Nous nous interrogeons sur la pertinence de la localisation de la station girondine.

La station du Morbihan (Locoal-Mendon) est en pré salé, inondé par l'eau de mer lors de coefficients assez forts. Il s'agit donc d'un milieu bien particulier. Nous ignorons quelles sont les zones d'intervention de l'EID dans le Morbihan, et nous ne savons donc pas si les prés salés y sont fortement représentés. Mais en tout cas ils ne le sont pas dans les départements des Pays de la Loire. Il est probablement pertinent que la station de Charente-Maritime soit localisée dans les marais de la Seudre.

Dans les Pays de la Loire, le choix du marais de Guérande pour y définir une station est probablement pertinent. Le choix de la station vendéenne est étrange. Les Bourbes de l'Allerie (Olonne sur mer) constituent un milieu peu étendu et très particulier, dont nous ne connaissons pas d'autre exemple dans le département. Il s'agit d'un marais doux boisé, et nous ne connaissons dans ce département pas d'autre site d'intervention de l'EID en eau douce si ce n'est peut-être, de façon marginale, à l'île d'Yeu.

PROTOCOLE D'ÉTUDE DES INVERTÉBRÉS AQUATIQUES

Le protocole de suivi des invertébrés est annoncé comme étant le même que celui utilisé antérieurement, et le lecteur est invité à se reporter à deux publications qui en fait, dans les références citées, ne correspondent pas à des études antérieures de l'EID et ne renseignent pas sur ce protocole.

Le protocole est tout de même décrit dans le rapport, et il est proche de celui résumé en introduction.

Pour chaque station sont définies deux zones de prélèvements, proches l'une de l'autre, l'une traitée et l'autre non. Dans ce second cas, il n'est pas précisé si l'absence de traitement ne vaut que pour la durée de l'étude. Il semble que oui, et donc que des zones témoins aient fait l'objet antérieurement de traitements réguliers. Cela pourrait poser problème dans l'hypothèse, suggérée par le titre du rapport, où la démoustication aurait des effets à long terme. En Charente-Maritime (station de Mornac sur Seudre), une nouvelle zone témoin a dû être définie en juin, suite à l'assèchement précoce de la zone témoin initiale.

En 2011, des mesures de paramètres du milieu et des prélèvements d'eau et de sédiment ont été faits 3 fois en Vendée et 4 fois en Loire-Atlantique. On comprend que les premiers prélèvements sont faits avant le premier traitement, et les derniers après le dernier traitement. On ne comprend par contre pas la logique de la chronologie des prélèvements intermédiaires, dont le calendrier est précisé pour les cinq stations, comme l'est celui des traitements. En effet, le protocole présenté indique que « ... la fréquence du suivi des communautés d'invertébrés a été adaptée de manière à couvrir l'ensemble de la période de traitement dans

chacune des stations considérées et à faire coïncider au mieux l'échantillonnage avec la présence éventuelle de VectoBac® dans les milieux. ». Ce rapport signale que «Le *Bti* est très peu rémanent dans l'eau et les sédiments, et son effet larvicide se dissipe au delà de 24 à 48 heures après l'application. ». Cela a été confirmé par l'EID en réunion. On s'attend donc logiquement à ce que les prélèvements soient faits rapidement après les traitements. Certains d'entre eux sont en fait réalisés plus de deux semaines, voire plus d'un mois après le traitement précédent. Nous ne comprenons pas cette incohérence entre ce qu'annonce le protocole, et le calendrier effectif des prélèvements. Pendant le délai écoulé entre l'arrêt d'un effet larvicide du *Bti* et le prélèvement suivant, rien n'exclut que le site de prélèvement soit recolonisé par suite d'une redistribution d'espèces mobiles, ou de l'apparition de nouvelles générations. Il nous semble donc que le retard de certains prélèvements par rapport aux traitements qui les précèdent peut introduire un biais important dans les résultats, qui pourrait estomper l'effet éventuel du *Bti* sur des espèces non cibles.

La méthode de prélèvement est la même que celle utilisée précédemment dans le Morbihan (voir introduction), à cela près que le diamètre des « carottes » est de 16,5 cm, et que seule une fraction de certains prélèvements a fait l'objet d'une analyse (identification et dénombrement des invertébrés). Pour chacune des deux zones traitée et témoin d'une station d'étude, l'ensemble des 5 prélèvements correspond donc à moins de 0,11 m². Ni le nombre ni la taille des prélèvements (carottes) ne sont justifiés. Nous craignons fort que, compte tenu de la taille des carottes, une bonne partie des individus des espèces les plus mobiles échappent à la capture. Cette crainte est corroborée par l'apparente sous-représentation de ces espèces dans les prélèvements analysés. Des prélèvements plus ou moins standardisés avec des échantillonneurs de type Surber auraient pu réduire ce biais ; malgré la quantité plus importante d'eau et de sédiment prospectés de cette façon, la minimisation du travail de laboratoire, qui a manifestement été recherchée, aurait pu être atteinte de la même manière en n'analysant qu'une fraction de chaque prélèvement.

Pour une station donnée, les valeurs moyennes relevées dans les deux zones (avec et sans *Bti*) des paramètres physico-chimiques, et de ceux caractérisant les peuplements d'invertébrés (diversité, densité, etc.) sont comparées, pour chacune des dates auxquelles les relevés et prélèvements ont été faits, et la significativité des différences est indiquée lorsqu'elle existe. Nous sommes tout à fait surpris par cet aspect de la méthode. S'il n'y a pas de définition des critères de choix des stations d'étude, il n'y en a pas non plus des critères de choix, dans chacune d'elle, des zones traitée et non traitée. Il n'est même pas indiqué que la similarité des milieux a été recherchée. Quand bien même l'aurait-elle été (et à plus forte raison si ce n'est pas le cas), il y aurait eu des différences, éventuellement importantes, entre zones. Les figures illustrant les résultats obtenus montrent en effet de nettes ou fortes différences entre les valeurs moyennes caractérisant les peuplements d'invertébrés des deux zones ; ces différences sont préexistantes à un effet éventuel du *Bti*, puisqu'elles apparaissent dès le premier prélèvement, qui précède le premier traitement. La mise en évidence de ces différences, souvent significatives malgré l'extrême parcimonie de l'échantillon, n'a en soi d'autre intérêt que de nature méthodologique. Cela aurait eu sa place dans une étude vraiment préliminaire visant justement à tester la similarité initiale des deux zones dans chaque station. Mais ce

n'est pas l'objet de l'étude. L'étude a pour but de rechercher un effet éventuel du *Bti* sur des invertébrés non cibles. Si effet il y a, il suit de près chaque traitement (voir supra), et ce qui importe, ce n'est pas en soi les différences entre les valeurs des deux zones à un moment donné, mais les « trajectoires » respectives des valeurs moyennes des deux zones au cours d'une année. Les valeurs moyennes relevées dans les deux zones de chaque station à chaque date de prélèvement étant présentées dans les figures, leur évolution respective au cours du temps peut être appréciée visuellement (et, si on avait foi dans le dispositif mis en place, on pourrait en déduire un effet négatif du *Bti* sur les densités de larves de chironomes). Ce qu'il faudrait traiter et analyser, c'est cette évolution au cours du temps de la différence des densités de chaque groupe taxonomique (pour ne prendre que cet exemple, mais c'est la donnée qui nous paraît la plus pertinente) entre zones traitées et non traitées.

Nous relevons dans ce rapport ce qui suit : « Par conséquent, il n'est pas concevable d'extrapoler les résultats obtenus dans un site donné à tout autre site, même si les conditions écologiques semblent comparables. *A fortiori*, cette démarche d'extrapolation est à proscrire lorsque les sites sont écologiquement différents... ». Cela correspond bien à notre conviction. Nous notons incidemment que c'est par contre en totale contradiction avec ce qui est couramment écrit sur le sujet traité, y compris par Lagadic *et al.* (2014) qui prétendent extrapoler à un grand ensemble de zones humides de l'Ouest de la France les résultats d'une étude menée sur un site du Morbihan (voir introduction). Cette prétention est donc non seulement très déraisonnable, mais elle est aussi troublante puisqu'elle est le fait du principal auteur de ce rapport et des deux coordinateurs scientifiques de cette étude. Quoiqu'il en soit, cette recommandation à l'encontre d'une extrapolation de résultats locaux est justifiée en raison de l'hétérogénéité spatiale des peuplements d'invertébrés aquatiques. Il est impératif d'essayer de prendre en compte cette hétérogénéité.

L'étude portant sur les secteurs d'intervention de l'EID dans 5 départements, et les moyens pour la mener étant limités, force est donc d'échantillonner. Pour cela, il faudrait concevoir un dispositif d'échantillonnage, ou quelque chose qui s'en approche. Rien de tel n'a été tenté. L'espace sur lequel porte l'étude, et sur lequel devrait donc, dans l'idéal, s'appliquer un dispositif d'échantillonnage, n'est pas défini. C'est, au plus, l'ensemble des sites (compris ici dans un sens fin, puisque le traitement se fait ponctuellement sur des parcelles ou parties de parcelles) sur lesquels intervient l'EID. De façon sans doute plus pertinente, c'est, parmi cet ensemble, celui des sites comprenant aussi des habitats d'intérêt communautaire. Le dispositif mis en place par l'INRA consiste à subdiviser d'abord cet espace en 5 parties correspondant à des départements. Cette première subdivision n'a aucun intérêt scientifique ou statistique. Dans chacun de ces 5 départements est localisée une subdivision de l'espace à étudier, appelée station d'étude. Ni l'unicité ni la localisation de cette station ne sont justifiées, et l'hétérogénéité des conditions écologiques n'est pas prise en compte. Dans un des cas (Olonne sur mer), le choix nous paraît très peu pertinent au regard de l'objet de l'étude, voire aberrant. Dans chaque station sont définies deux zones, l'une traitée, l'autre témoin. Aucune justification n'est fournie quant au choix de ces zones, ni quant à leur unicité par modalité, qui ne peut prendre en compte l'hétérogénéité existant dans la station (qui est attestée par les différences constatées entre zones). A l'intérieur de chaque zone sont faits à chaque fois 5

prélèvements, couvrant une surface infime. Ce nombre de prélèvements (ou si l'on préfère cette fraction d'échantillonnage) n'est pas non plus justifié. Il n'y a pas eu d'étude préliminaire évaluant l'hétérogénéité intra-zone, en fonction de laquelle on aurait pu calculer la fraction d'échantillonnage nécessaire pour obtenir une précision donnée des estimations de densités, ou bien inversement calculer la précision d'estimations obtenues à partir d'une fraction d'échantillonnage fixée par exemple en fonction des moyens disponibles. Le rapport ne présente que les valeurs moyennes des 5 prélèvements par zone et par campagne, mais aurait pu utilement donner des indications sur l'hétérogénéité des valeurs parmi les prélèvements par zone.

Le rapport conclut que :

- le dispositif mis en place est fonctionnel
- les 3 stations du Morbihan, de Vendée et de Gironde sont validées, celles de Loire-Atlantique et Charente-Maritime posant par contre problème
- « les éventuels effets du VectoBac® WG sur les communautés d'invertébrés aquatiques non-cibles ne peuvent être évalués sur la base des résultats actuellement acquis. Même si des différences significatives entre zone témoin et zone traitée ont été mises en évidence pour certains des descripteurs des communautés, aucune tendance ne se dégage dans la mesure où (1) ces différences sont ponctuelles dans le temps et (2) le sens de ces différences varie d'une date de prélèvement à la suivante. Seul un suivi sur plusieurs années de l'évolution des communautés d'invertébrés aquatiques non-cibles permettra de déceler d'éventuels effets du VectoBac® WG. ».

Nous voyons dans ces conclusions des contradictions, et des problèmes sur lesquels nous reviendrons dans nos commentaires généraux.

RAPPORT 2013 :

Ce rapport rend compte des travaux réalisés en 2012. Le protocole est identique. Il est précisé, ce qui n'était pas le cas dans le rapport précédent, que dans chaque station les zones traitée et témoin ont été choisies en veillant à ce qu'elles soient « le plus homogène possible » ; nous présumons que cela signifie qu'on a veillé à la similarité des deux zones.

La station vendéenne n'a pas été suivie parce qu'elle est restée à sec. En Loire-Atlantique (station de Guérande), une nouvelle zone témoin a été définie parce que les analyses de 2011 ont montré que la zone témoin initiale et la zone traitée étaient trop dissemblables. C'était en fait prévisible eu égard aux différences de nature et de fonction de ces deux zones ; cela aggrave le doute concernant la façon dont ont été effectués les prospections et les choix initiaux des stations et zones. Le rapport de 2011 indiquait pourtant que « Pour les stations sous influence marine (Locoal-Mendon, Guérande et Mornac-sur-Seudre), les paramètres

physico-chimiques sont très comparables entre zone témoin et zone traitée » et « En termes de fonctionnalité, le dispositif s'avère tout à fait satisfaisant ». Il semble bien en fait que ce soit les différences, effectivement très fortes, entre les peuplements d'invertébrés des deux zones de la station de Guérande qui aient contraint à déplacer la zone témoin. Cela montre qu'une bonne similitude des conditions physico-chimiques ne préjuge pas forcément de celle des peuplements d'invertébrés. Le rapport ne précise pas si la nouvelle zone témoin avait été traitée en 2011. Dans les 3 stations sous influence marine (pré salé et lagunes côtières), les campagnes de prélèvements ont été planifiées toutes les 6 semaines. Il n'y a donc pas de lien entre les dates des traitements (qui sont pour partie imprévisibles, dépendant de remises en eau de milieux temporairement asséchés) et celles des mesures et prélèvements.

Le rapport indique que les données de 2012 relatives aux invertébrés seront compilées avec celles de 2011 et 2013. Elles ne sont pas présentées. Seules le sont celles relatives aux caractéristiques physico-chimiques des zones.

La conclusion de ce rapport est qu'il faudra accumuler des données sur un certain nombre d'années pour obtenir des résultats.

COMMENTAIRES GÉNÉRAUX :

- cette étude ne traite pas de l'effet du *Bti* sur les espèces cibles, qui est présumé acquis et consister en une réduction locale des densités de larves et d'adultes, ce qui a très probablement un effet sur les espèces prédatrices et concurrentes de celles-ci, et plus généralement sur les cycles trophiques. La question posée par la DREAL porte bien sur le sujet de l'étude, qui se limite à l'effet éventuel sur les espèces non cibles.

- on peut toutefois s'interroger sur les espèces à prendre en compte, et sur celles devant mériter une attention particulière.

La première question concerne l'opportunité de présenter les données obtenues sur les culicidés. Dans les graphiques présentant les résultats sont distingués les principaux groupes taxonomiques, parmi lesquels les chironomes, mais pas les moustiques. Ce serait pourtant opportun de le faire, ne serait-ce qu'à titre de test. Si en effet on trouvait sur les zones traitées des densités de larves de moustiques pas très fortement inférieures à celles trouvées sur les zones témoins, ce serait soit qu'en fait le *Bti* n'a pas tout l'effet escompté sur les espèces cibles, soit que le protocole (et particulièrement le calendrier) des prélèvements n'est pas adéquat, soit que l'observation de densités notables de larves de chironomes sur les zones traitées n'exclurait pas que le *Bti* ait un effet sur ces espèces non cibles, ce qui aggraverait nettement la difficulté à répondre à la question posée.

En annexe du rapport de 2011 se trouvent les listes, par station, des groupes d'espèces inventoriées, avec indication des densités moyennes par zone. Le tableau 1 reprend ces données pour les culicidés :

Station	Z. témoin	Z. traitée
Locoal-Mendon	0	0
Guérande	1	1
Olonne sur mer	94	43
Mornac sur Seudre	3	34
Budos	292	126

Tableau 1 : Densités (ind./m²) moyennes de larves de *Culicidae* notées en 2011 dans les zones témoins et traitées des 5 stations d'étude.

Il s'agit des densités moyennes faisant suite aux campagnes de prélèvements répétées au cours de l'année, dont il faut rappeler que la première précède le premier traitement.

On note que dans les stations du Morbihan et de Loire-Atlantique, les densités moyennes sont à peu près nulles, y compris sur les zones témoins. C'est surprenant, puisque les traitements ne sont faits normalement qu'après constatation d'une densité minimale de larves (5 / litre). On ne sait qu'en conclure, sinon que la condition préalable aux traitements (4 et 3 en 2011 sur ces stations) n'a peut-être pas été respectée, ou que les prélèvements faits dans le cadre de cette étude n'ont peut-être pas été efficaces, ou qu'ils ont été faits en dehors des brèves périodes pendant lesquelles les espèces cibles étaient au stade larvaire.

Globalement, la densité de larves de moustiques n'est que 2 fois plus faible sur les zones traitées. On peut supposer, soit que l'efficacité de la démoustication sur les espèces cibles laisse à désirer, soit par exemple que le protocole de suivi des invertébrés aquatiques, et plus particulièrement les dates des prélèvements étaient inadéquats, ce qui confirmerait nos conclusions précédentes. Dans la mesure où il ne nous paraît pas possible de remettre en cause l'efficacité larvicide du *Bti* sur les culicidés, on peut en tout cas conclure que, dans les conditions de cette étude, la présence de densités notables de larves de chironomes sur des zones traitées ne montrerait pas une absence d'effet du *Bti* sur ces espèces non cibles. On doit donc s'interroger (et les rapports ne montrent pas que leurs auteurs l'aient fait) sur les critères ou indicateurs susceptibles d'apporter une réponse à la question étudiée.

La seconde question concerne l'utilité de prendre en compte l'ensemble des invertébrés non cibles. Le mode d'action du *Bti* rend bien peu probable un effet direct sur les crustacés par exemple. Le rapport de 2011 indique d'ailleurs que « Son mode d'action le rend hautement spécifique d'un groupe d'insectes, en l'occurrence les diptères nématocères, et plus particulièrement les *Simuliidae*, *Chironomidae* et *Culicidae* ». Peut-être vaudrait-il mieux concentrer l'utilisation des moyens limités disponibles sur l'étude de l'effet direct possible du *Bti* sur les insectes non cibles.

- un défaut majeur du protocole est l'absence d'une esquisse de plan d'échantillonnage spatial. Que ce défaut soit courant dans les études similaires, et ne fasse pas souvent obstacle à la publication des résultats obtenus, n'empêche pas que c'en est un. La rareté des points de prélèvements, leur taille (l'ensemble des prélèvements sur des zones traitées correspond à une surface inférieure à 0,5 m² en 2011, et à 0,4 m² en 2012), et l'arbitraire de leur localisation, ne permettent pas de contrôler l'hétérogénéité spatiale des conditions écologiques et des

peuplements d'invertébrés, ni d'évaluer la précision et la fiabilité des résultats. Mais ces dernières ne peuvent être qu'extrêmement faibles. Si l'on suivait au pied de la lettre la recommandation des auteurs à propos des limites à l'extrapolation, on pourrait d'ailleurs conclure que les données obtenues renseignent (si l'on négligeait les biais affectant les prélèvements eux-mêmes) sur cette surface de moins de 0,5 m², ou au mieux sur les zones sur lesquelles sont faits ces prélèvements et qui couvrent une surface des plus restreintes, mais certainement pas sur l'ensemble des secteurs d'intervention de l'EID. Dans tous les cas de figure, il faudrait pour ce faire des moyens beaucoup plus importants que ceux mis en œuvre dans cette étude. Ce n'est peut-être pas faisable. Auquel cas il faudrait en prendre acte et éviter de donner l'illusion que la question posée est réellement étudiée.

- le choix des très rares stations d'étude, et des zones témoins et traitées n'a pas été correctement préparé et n'est pas toujours compréhensible. Dès les 2 premières années d'étude, 2 zones témoins ont dû être déplacées, et une station n'a pas été utilisable en 2012.
- les zones « témoins » le sont-elles vraiment ? Alors même que ces rapports répètent qu'il s'agit d'une étude à long terme et que seule la répétition des campagnes de prélèvements peut faire espérer des résultats, il semble bien que ces zones témoins aient été traitées avant qu'elles ne soient définies comme témoins. Dans l'hypothèse d'un effet durable ou à long terme du *Bti*, ce ne serait donc pas vraiment des stations témoins.
- les dates des prélèvements ne répondent à aucune logique compréhensible, et n'ont pas de lien systématique avec celles des traitements, dont l'effet larvicide est pourtant très éphémère ; c'est d'ailleurs pourquoi les traitements doivent être répétés aussi souvent que se répètent au cours d'une année des périodes propices à l'éclosion des œufs de moustiques.
- dans les titres et les contenus de ces rapports, il est question de long terme, de nécessité d'accumuler des données au fil des ans, etc. Nous ne comprenons pas bien pourquoi. Comme déjà indiqué, les auteurs des rapports précisent que l'effet larvicide du *Bti* se dissipe après 48 h, et les traitements doivent être répétés annuellement, généralement plusieurs fois par an. Le *Bti* a donc un effet immédiat en réduisant la densité de larves de moustiques (mais voir tableau 1) et à très court terme en réduisant l'abondance de l'émergence qui suit. Nous ignorons (et peut-être l'EID aussi) si cette réduction du nombre d'adultes émergents a un effet sur l'abondance de l'émergence suivante (c'est-à-dire de la génération suivante). Il est probable que non, ou bien que cet effet différé est très faible, sinon il ne serait sans doute pas nécessaire de traiter systématiquement les mêmes secteurs pendant des décennies. Bien que l'écologie et la dynamique des populations de chironomes par exemple soient différentes, il nous semble également peu probable qu'il y ait un effet à long terme sur leurs populations. Et en tout cas, pour qu'il y en ait un, il faudrait d'abord qu'il y ait un effet à court terme. Il serait donc opportun de cibler prioritairement les investigations sur l'éventualité d'un effet à court terme, et donc de tenter d'abord de répondre à la question : un épandage de *Bti* a-t-il un effet immédiat sur la densité locale de larves de chironomes (ou d'autres populations d'invertébrés non cibles) ? Si l'on arrivait à répondre à cette question et que la réponse était négative, il n'y aurait guère lieu de s'interroger sur l'existence d'un effet à long terme, ni d'un effet sur des

populations prédatrices ou concurrentes ; si la réponse était positive, alors ces autres questions, beaucoup plus difficiles à étudier, se poseraient puisqu'il s'agit en quelque sorte de tester une hypothèse (existence d'un effet versus absence d'effet), il aurait été de bon goût de définir le critère ou l'indicateur permettant de vérifier ou non l'hypothèse. Cela n'est pas fait, en tout cas pas explicitement. La lecture des graphiques et de leur interprétation montre que l'information recherchée implicitement par les auteurs est, pour une station et une campagne de prélèvements données, la différence de composition et d'abondance des populations d'invertébrés entre zones traitée et témoin. Ces différences renseignent en fait sur l'hétérogénéité spatiale des communautés d'invertébrés, mais elles renseignent d'autant moins sur l'effet du Bti que les dates de prélèvements sont déconnectées de celles des traitements. Il est donc normal que les auteurs constatent qu'ils ne peuvent conclure. Et en effet la lecture de ces deux rapports ne permet pas en soi de savoir si le Bti a eu un effet sur la surface traitée de moins de 0,5 m² ayant fait l'objet de prélèvements. Les auteurs attribuent ce défaut de résultats à l'insuffisance de données et concluent qu'il faut poursuivre l'étude. Nous pensons que, compte tenu de l'inadaptation du protocole à l'étude de l'éventuel effet immédiat du Bti sur des invertébrés non cibles, et faute d'une bonne compréhension par les auteurs du problème posé et de ce que c'est l'évolution des différences entre zones témoins et traitées qu'il importe d'examiner, l'accumulation de ces données aura peu d'utilité et ne pourra pas apporter de résultats probants, ne serait-ce que sur les stations d'étude.

Caquet T., Roucaute M., Le Goff P. & Lagadic L. (2011). Effects of repeated field applications of two formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target saltmarsh invertebrates in Atlantic coastal wetlands. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74 : 1122-1130.

Lagadic L., Roucaute M. & Caquet T. (2014). Bti sprays do not adversely affect non-target aquatic invertebrates in French Atlantic coastal wetlands. *Journal of Applied Ecology* 51 :102-113.

Roucaute M, Liger M-A., Gautier Y. & Roucaute A. (2011). Evaluation à long terme des effets non intentionnels de la démoustication dans les secteurs d'intervention de l'EIDAtlantique. Suivi de l'impact potentiel du VectoBac® WG sur les invertébrés aquatiques non-cibles dans les habitats prioritaires des départements Morbihan, Loire-Atlantique, Gironde et Charente-Maritime. Résultats de l'étude préliminaire réalisée en 2011. Rapport INRA.

Roucaute M, Geret C. & Roucaute A. (2013). Evaluation à long terme des effets non intentionnels de la démoustication dans les secteurs d'intervention de l'EID-Atlantique. Suivi de l'impact potentiel du VectoBac® WG sur les invertébrés aquatiques non-cibles dans les habitats prioritaires des départements Morbihan, Loire-Atlantique, Gironde, Charente-Maritime pour l'année 2012. Rapport INRA.

CONCLUSION :

Compte-tenu de l'ensemble de ces commentaires, le CSRPN considère que cette étude telle qu'elle a été menée et présentée, ne permet pas de répondre à la question de l'impact de l'usage du Bti sur la faune non-cible et les milieux naturels, posée par la DREAL.

La Vice-Présidente du CSRPN
Joëlle Fustec